

МАТЕРИАЛЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ
ENCEPHALITOOZON CUNICULI НА МЫШАХ
НЕКОТОРЫХ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ

В. Н. Калякин и А. Р. Слепченко

Лаборатория токсоплазмоза Отдела природноочаговых болезней
и Лаборатория инбредных животных Института эпидемиологии
и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Исследование микроскопически и путем биопроб на наличие *Encephalitozoon cuniculi* мышей восьми инбредных линий и сублиний дало отрицательный результат. Экспериментальное заражение показало, что наименее резистентны мыши линии CC57W и что взрослые животные чувствительнее молодых. По мере пассирования вирулентность *E. cuniculi* усиливалась. Мыши линии CC57W рекомендуются в качестве модели при изоляции паразита и изучении его в лабораторных условиях.

Encephalitozoon cuniculi Levaditi, Nicolau, Schoen, 1923 — обычный паразит ряда лабораторных животных (кроликов, морских свинок, крыс и мышей), зачастую оказывается серьезной помехой при изучении различных инфекций и инвазий на упомянутых животных в качестве экспериментальных моделей (Засухин и др., 1969).¹

Наши исследования показали, что *E. cuniculi* является широко распространенным паразитом как беспородных лабораторных, так и диких домовых мышей на территории Москвы и Московской области. Это было подтверждено микроскопически и выделением паразитов методом биологической пробы. Организмы типа *E. cuniculi* неоднократно выявлялись микроскопически в головном мозге ряда синантропных и диких грызунов в Тульской и Московской областях (у черных крыс, лесных и желтогорлых мышей, обыкновенных и рыжих полевков), но не были точно идентифицированы, поскольку биопроб с целью их выделения не ставили (В. Н. Калякин). Представитель другого рода микроспоридий — *Thelohania apodemi* был недавно описан во Франции у лесных мышей на основании гистологического обследования их мозга (Doby et al., 1963).

Паразиты типа *Encephalitozoon* были обнаружены у человека, а их присутствие связывалось при этом с патологическими состояниями (Marpouélian, Viala, 1924; Coulon, 1929; Matsubayashi et al., 1959; Витинг, 1966, 1969).

В связи с возможной ролью *E. cuniculi* в патологии человека и, по-видимому, с очень широким распространением данного простейшего в качестве паразита как лабораторных, так и диких животных встает вопрос о методах его выявления, в том числе и с помощью постановки биологических проб на лабораторных животных. При этом совершенно очевидно, что последние должны быть свободны от спонтанного носительства *E. cuniculi*, но быть восприимчивыми к его введению и в достаточной степени чувствительными к этому паразиту. Известно, что мыши восприимчивы

¹ В последнее время некоторыми авторами высказывалось мнение о том, что *Encephalitozoon* является синонимом рода *Nosema* Nägeli, 1857 (Weiser, 1964; Lainson et al., 1964).

к *E. cuniculi*, но обладают при этом довольно низкой видовой чувствительностью к нему (Куё, 1960; Weiser, 1965; Засухин и др., 1969), причем молодые (до 3—4 недель) гораздо менее чувствительны, чем взрослые (Куё, 1960). Сведений о генетически обусловленных различиях в восприимчивости и чувствительности мышей к *E. cuniculi* мы не нашли. В то же время нам известны сообщения о зараженности этим паразитом мышей некоторых инбредных линий в Австралии и США (Malherberg, Munday, 1958; Nelson, 1962). Работы, посвященные экспериментальному изучению *E. cuniculi* на мышах инбредных линий, нам неизвестны. Поэтому мы сочли целесообразным исследовать мышей ряда инбредных линий, разводимых в племенном питомнике Института экспериментальной медицины им. Гамалеи АМН СССР, на спонтанное носительство *E. cuniculi*, а также попытаться выявить различия в восприимчивости и чувствительности мышей этих же линий к данному паразиту. Данная работа представлялась уместной в связи с необходимостью выявления чистой и достаточно чувствительной модели для выделения организмов типа *E. cuniculi* методом биологической пробы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Были обследованы мыши следующих линий и сублиний: Af, BALB/cDe, CC57BR, CC57W, C3H/Sn, C3H/H2^p, C57BL/10Sn, C57BL/10H2^d. При исследовании на спонтанное носительство *E. cuniculi* из каждой из этих линий было взято не менее 5 мышей в возрасте около 1 года. Из головного мозга и сердца мышей каждой линии приготавливали взвесь в стерильном физиологическом растворе в соотношении 1 : 1 и ставили групповую биопробу. Приготовленную взвесь вводили внутрибрюшинно мышам линии CC57BR или C3H/H2^p по 1.0 мл каждой. Всего было поставлено 8 биопроб соответственно количеству проверенных линий. Каждая биопроб ставилась на 10—18 животных. Половину мышей из каждой биопробы забивали через 18—21 день после инокуляции. От забитых мышей делали отпечатки внутренних органов и стенки брюшной полости с последующей фиксацией метиловым спиртом и окрашиванием по Романовскому-Гимза. Препараты просматривали с иммерсионным объективом. Оставшиеся в живых животные находились под наблюдением в течение шести месяцев со дня инокуляции, после чего забивались и исследовались аналогичным образом. Кроме того, от каждой мыши просматривали по два нативных препарата мозга и окрашенные мазки головного мозга. Точно такому же микроскопическому исследованию были подвергнуты все мыши, от которых ставились биопробы. Все манипуляции, а также содержание биопробных мышей проводились в лаборатории инбредных животных в условиях, которые исключали какой-либо контакт со спонтанными носителями *E. cuniculi*. Всего методом биопроб и микроскопически исследовано 49 мышей, только микроскопически — 134 инокулированные мыши.

Работа по выяснению восприимчивости и чувствительности мышей инбредных линий велась со штаммом *E. cuniculi* — 44WM, который был выделен от беспородной белой мыши. Штамм прошел к началу его изучения на инбредных мышах 8 пассажей на беспородных белых мышах. Штамм перевивался путем внутрибрюшинных инокуляций перитонеального экссудата с интервалами от 17 до 25 дней. Беспородные мыши проявили значительную резистентность по отношению к *E. cuniculi*: они переносили инвазию бессимптомно, и экссудат в брюшной полости образовывался менее, чем у 5% заражаемых мышей.

На восприимчивость и чувствительность к *E. cuniculi* были исследованы мыши всех упомянутых выше линий. Были использованы взрослые мыши в возрасте 1.5—2 мес. и молодые — в возрасте около трех недель. Мышей заражали внутрибрюшинно. Поскольку методика подсчета *E. cuniculi* не разработана, для получения сопоставимых результатов вводимая мышам перитонеальная жидкость тщательно перемешивалась как до, так и в процессе заражения; каждой мыши вводили по 0.1 мл экссудата. Из каждой

линии в большинстве заражений было от 9 мышей и более. Всего использовано более 600 мышей линии CC57W и 259 мышей других семи линий и сублиний.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании линейных мышей на спонтанное носительство *E. cuniculi* данный паразит не был выявлен ни в одном случае. Не было отмечено также видимых патологических изменений на вскрытии или каких-либо клинических симптомов заболевания у биопробных животных. Следовательно, мыши указанных выше линий и сублиний в условиях их разведения и содержания в питомнике инбредных животных ИЭМ им. Гамалеи АМН СССР свободны от спонтанной инвазированности *E. cuniculi* и могут быть использованы в качестве модели для постановки биологических проб и при экспериментальном изучении данного паразита. В этом убеждает нас опыт работы как с самим паразитом, так и с животными, которые являются его носителями. При наличии *E. cuniculi* у отдельных животных он очень быстро передается другим членам популяции. Так, мыши линии CC57W, обладающие повышенной чувствительностью к *E. cuniculi*, при содержании в одном помещении с беспородными мышами через 2—3 мес. уже становились носителями паразита, что было выяснено путем микроскопического их исследования, и не реагировали на внутрибрюшинное введение *E. cuniculi* развитием острого, оканчивающегося гибелью заболевания, как это имело место в других случаях.

При экспериментальном заражении инбредных мышей *E. cuniculi* было выяснено, что мыши всех испытанных линий в отличие от беспородных животных в 100% случаев восприимчивы к паразиту. Через 2—3 недели после заражения в брюшной полости инокулированных мышей появлялось значительное количество экссудата (максимально до 13 мл у одного животного), в котором микроскопически легко можно было обнаружить паразитов.

По мере пассирования наблюдалось усиление вирулентности *E. cuniculi*. Это выражалось в увеличении процента погибающих в результате заражения животных и в сокращении длительности их выживания. Так, на 9-м пассаже, явившемся первым заражением линейных мышей, гибели среди них отмечено не было. На следующем (10-м) пассаже введение паразита оказалось летальным для половины зараженных мышей линии CC57W, а с 13-го пассажа взрослые мыши линии CC57W погибали в результате инвазии в 100% случаев. С 17-го по 64-й пассаж штамм перевивался только на мышах линии CC57W. Для всех взрослых мышей введение паразита оканчивалось гибелью, наступавшей через 11—14 дней после заражения. Мыши в возрасте до 1 мес. выживали значительно дольше взрослых, а от 10 до 30% зараженных молодых мышей выживало в течение нескольких месяцев (до полугода — срок наблюдения). При заражении взрослых мышей взвесью головного мозга, сердца, селезенки или печени от выживших в течение длительного времени молодых мышей период выживания взрослых зараженных мышей увеличивался до 30—40 дней и некоторые мыши выживали до 6 мес. (срок наблюдений).

Мыши других испытывавшихся инбредных линий проявили меньшую по сравнению с мышами линии CC57W чувствительность к *E. cuniculi*. Наиболее чувствительными среди них оказались мыши линии C3H/Sn. Часть мышей этой линии погибла в результате введения паразитов на 11, 13 и 14 пассажах. Мыши линии C3H/H2^p выживали все без видимых клинических проявлений до 14 пассажа, а мыши линии CC57BR — до 16 пассажа. Длительное пассирование в значительной степени повысило вирулентность штамма даже по отношению к молодым мышам, однако и среди молодых животных наибольшую чувствительность проявили мыши линии CC57W. На 65-м пассаже были заражены 3-недельные мыши линий BALB/cDe, C3H/Sn, C3H/H2^p и CC57W. Наибольшая смертность была отмечена среди мышей линии CC57W.

Так как наиболее чувствительными к инвазии оказались мыши линии CC57W, они по сравнению с мышами других исследовавшихся линий более подходят в качестве модели для экспериментального изучения *E. cuniculi*, а также при постановке на них биологических проб с целью изоляции данного паразита.

Л и т е р а т у р а

- В и т и н г А. И. 1966. К этиологии и патогенезу рассеянного склероза в свете морфологических исследований ЦНС. Тр. ЦИУ. Инф. и сосудистые заболевания нервной системы. М., 83 : 68—79.
- В и т и н г А. И. 1969. О паразитарной природе рассеянного или множественного склероза. Паразитол., 3 (6) : 569—573.
- З а с у х и н Д. Н., К а л я к и н В. Н. и В и т и н г А. И. 1969. К проблеме нозематоза млекопитающих и человека. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 38 (3) : 317—320.
- C o u l o n G. 1929. Présence d'un nouveau Encephalitozoon (*E. brumpti* n. sp.) dans le liquide céphaloroachien d'un sujet atteint de méningite suraigue. Ann. Parasit. hum. comp., 7 : 449—452.
- D o b y J., J e a n n e s A. et R a u l t B. 1963. *Thelohania apodemi* n. sp. première microsporidie du genre *Thelohania* observée chez un Mammifère. C. R. Acad. Sci., 257 : 248—251.
- K y ö Y. 1960. Investigations on the growth on Encephalitozoon in experimentally infected mice. Japan. J. Med. Progr., 47 (1) : 30—35.
- L a i n s o n R., G a r n h a m P. C. C., K i l l i c k - K e n d r i c k R. and B i r d R. G. 1964. Nosematosis, a microsporidial infection of rodents and other animals, including man. Brit. Med. J., 2 : 470—472.
- M a l h e r b e r g H. and M u n d a y V. 1958. Encephalitozoon cuniculi infection of laboratory rabbits and mice in South Africa. J. S. Afric. Vet. Med. Ass., 29 (3) : 241—246.
- M a n o u é l i a n J. et V i a l a I. 1924. Encephalitozoon rabiei, parasite de la rage. Ann. Inst. Pasteur, 38 : 258—263.
- M a t s u b a y a s h i H., K o i k e T., M i k a t a J., T a k e i H. and H a g i w a r a S. 1959. Encephalitozoon-like body infection in man. Arch. Pathol., 67 : 181—189.
- N e l s o n J. B. 1962. An intracellular parasite resembling a microsporidian associated with ascites in Swiss mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 109 : 714—717.
- W e i s e r J. 1964. On the taxonomic position of the genus Encephalitozoon Levaditi et al., 1923 (Protozoa, Microsporidia). Parasitol., 54 : 749—751.
- W e i s e r J. 1965. *Nosema muris* n. sp., a new microsporidian parasite of the white mouse (*Mus musculus* L.). J. Protozool., 12 (1) : 78—83.

ON EXPERIMENTAL STUDIES OF ENCEPHALITOOZON CUNICULI ON MICE OF SOME INBRED LINES

V. N. Kaljakin and A. R. Slepchenko

S U M M A R Y

Studies of mice of eight inbred lines and sublines for the presence of *Encephalitozoon cuniculi* yielded negative results. Experimental infection has shown that mice of the line CC57W are less resistant and adult ones are more sensitive than young animals and can be used more successfully than mice of other lines as a model for the isolation of the parasite and its studies under laboratory conditions. While passing on mice the virulence of *E. cuniculi* increased.